

关于 iFlora 创建工作框架的建议*

曾春霞, 杨俊波**, 杨 静, 伊廷双, 林春艳

(中国科学院昆明植物研究所中国西南野生生物种质资源库, 云南 昆明 650201)

摘要: iFlora 是依据传统植物分类学及相关学科的研究基础, 融入现代 DNA 测序技术, 应用高速发展的信息、网络技术及云计算分析平台, 收集、整合和管理植物物种相关信息, 以建成智能物种鉴定和数据提取的开放应用系统 (智能装备)。通过与该系统的双向交流, 一方面, 可以不断整合新的数据和技术充实 iFlora 的内容和功能; 另一方面, 可以通过该系统的多种鉴定途径实现快速、准确和方便的物种鉴定, 获取所需物种的相关信息, 满足专业机构和公众对物种和生物多样性的认知要求。本文重点介绍了构成 iFlora 的应用装置和支撑该装置的实物库 (凭证标本、分子材料和 DNA 库) 的建设及其重要性; 阐述了构成 iFlora 各单元的高度整合和集成的特点, 以及基于计算机技术的物种信息数字化和开放的云计算数据分析处理服务平台的枢纽作用; 并讨论了 iFlora 创建过程所面临的困难和挑战, 以及拟研发的智能装备的框架和应用前景。

关键词: 新一代植物志; 实物库; 物种数字化信息库; 云计算服务

中图分类号: Q 948.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0845(2012)06-555-07

A Proposed Framework for iFlora*

ZENG Chun-Xia, YANG Jun-Bo**, YANG Jing, YI Ting-Shuang, LIN Chun-Yan

(Germplasm Bank of Wild Species, Kunming Institute of Botany, China Academy of Sciences, Kunming 650201, China)

Abstract: The next-generation Flora, or iFlora is an open application system (intelligent device) for plant species identification and data extraction. It derives from the accumulation of traditional plant taxonomy and related disciplines, but also integrates modern DNA sequencing technologies for collection and management of species information based on high-speed computer digitization, network technology and cloud computing analysis platform. Through two-way communication with this system, on one hand, new data and technology can be constantly integrated to enrich the content and function of the iFlora, on the other hand, to acquire the needed species information by means of variously identified pathways to achieve a rapid, accurate and convenient identification of species, so that it meets the cognitive demands of not only professional organizations but also the general public at different levels. The aim of this paper is to: 1) explain the construction of the iFlora application device, the component libraries (including information on voucher specimens, molecular materials and DNA sequences), and their importance; 2) point out the crucial role of digitizing species information and the open cloud computing service platform for data analysis because of the high integration and assembling capabilities of iFlora; and 3) discuss the challenges faced by the iFlora projects and outline possible intelligent device and application prospects in the near future.

Key words: iFlora; Entity library; Species information digitization; Cloud computing

* 基金项目: 中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目实施方案项目 (植物遗传信息高效获取技术体系集成研制); 中国科学院科技创新交叉与合作团队 (iFlora 交叉与合作团队); 国家科技部科技基础工作专项项目; 国家高科技研究发展计划 (863 计划) (2012AA021801); 中国科学院大科学装置开放研究项目 (2009-LSF-GBOWS-01)

** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: jbyang@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2012-11-05, 2012-11-09 接受发表

作者简介: 曾春霞 (1980-) 女, 博士, 主要从事植物系统发育研究。E-mail: zengcx@mail.kib.ac.cn

随着科学技术快速发展和知识的大量积累,人类对植物的复杂性和多样性认识的要求不断提高,快速准确的物种鉴定和相关数据信息的方便快捷获取,成为未来植物志发展的必然趋势(李德铎等, 2012)。iFlora(新一代植物志)正是在这种背景和需求下产生和发展起来的。iFlora中“Flora”指的是植物志,即传统意义上记载某国或地区植物种类的分类学专著(Frodin, 2001),它是研究植物分类、系统发育、进化、生态、植物地理和保护生物学的基础植物典籍(Funk, 2006)。随着《中国植物志》的全部出版,英文版的*Flora of China*也进入全面完成阶段。一些电子植物志(eFlora)的出版,更加方便了植物信息的检索和查询,并可以进行即时更新和提取数据信息(Brach和Song, 2005; Brach和Boufford, 2011)。这为植物学研究步入“后植物志时代”奠定了坚实基础。iFlora中的“i”有极其丰富的内容,主要包括物种信息整合(integrated)、网络(internet)技术和应用智能化(intelligent)等内容。在计算机信息化及网络技术支持下,整合物种信息和各类相关技术及在此基础上取得的新数据和信息,并通过计算机信息数字化和云计算技术对这些数据和信息加以有机联接和计算分析,达到智能化多途径物种鉴定和数据信息生成提取的综合开放系统(图1)。该系统的建成将极大方便和促进国家相关部门和行业、植物学各相关专业的需求和发展,同时也能满足普通公众对身边习见物种的认知要求,提高公众科技素养,培育对物种认知能力。因而,iFlora的创建不仅有利于植物学的发展,同时具有显著的实用性。因为其涉及广泛的数据信息和新技术、新知识的有机整合,需要进行一系列的技术攻关和数据集成。本文主要介绍iFlora研制的主要内容及其工作框架的建议,讨论综合创建过程中存在的主要困难和问题。

1 iFlora的主要内容和框架

实物库、遗传信息获取系统、数字化信息库和计算分析系统的构建,以及它们之间的紧密有机联接是iFlora研制的主要内容和框架(图1)。

1.1 实物库

iFlora涉及的实物库主要有三类:植物标

本、植物分子材料和植物总DNA库。实物库是创建iFlora的主要物质基础,也是追溯求源的重要保障。一方面,通过实物库的建设可储存和充实植物标本馆、DNA库等实物收藏及其物种相关信息;另一方面,这些库所保存的实物,不但能够为植物学研究中新技术和新方法的应用提供有力的材料保障,也是联系和比较新旧研究成果的重要纽带,具追溯的功能。

世界上3400多个植物标本馆及其巨大储量的植物标本,是植物志编研和分类学家等使用的主要工具和宝贵财富(Brooke, 2000),也是物种信息的主要承载者。经过250余年的标本采集和研究,植物标本的采集和保存有了较为标准的规范。目前,野外样品的采集工作主要依赖已有标本提供的分布区和鉴定信息来完成,其中模式标本具有不可替代的重要作用。随着分子生物学的发展,DNA提取技术和方法的不断进步,植物标本也越来越多地用于遗传信息的获取研究(Vincent等, 1995; Salvatore等, 2007; Diane等, 2010; Martijn等, 2011)。

近年来,植物分子材料和植物总DNA库越来越受到研究者的重视,是生物多样性信息特别是遗传信息的重要保存和提取对象。植物分子材料主要是经快速脱水、干燥的植物叶片、种子或其它器官,在适当的条件下可进行长期保存。从对保存较好的植物标本的研究情况看,如果严格按采集和储存标准进行植物分子材料库的建设,其收集的材料在数百年后仍能获取到相关遗传信息(Telle和Thines, 2008; Andreasen等, 2009)。植物分子材料库的建设,可以很好地长期保存植物遗传信息材料,方便快捷地为植物学研究提供实验材料,同时还能为新技术和新方法在植物学研究中的应用储备资源。

DNA条形码被正式提出之前,就有学者提出,通过新技术与传统分类系统相结合建立一个以DNA分类为基础的系统,使数个世纪积累起来的宝贵信息得到充分利用,并能使分类学家的专长和经验得到知识性的转化,利用DNA序列分析作为传统分类方法的有效辅助手段而应用于类群及物种的鉴定(Niesters等, 1993; Brown等, 1999; Tautz等, 2002; Wells等, 2011)。目前,DNA条形码已成为分类学关注的新方向和

学科发展的新增长点, 其操作的简便性和高效性将加快物种鉴定和演化历史研究的步伐。国际生物条形码计划倡导在未来 20 年内建立完整 DNA 条形码系统 (Stoeckle, 2003)。该计划期望所有的 DNA 提取物、所有的序列数据在全球范围内集中统一管理并全球共享, 作为生物多样性评估和物种鉴定的基础 (Blaxter, 2003; Tautz 等, 2002)。Savolainen 和 Reeves (2004) 提出了为物种保护和未来科学研究储备资源而在全球范围内建立 DNA 库的“Plea”(诉讼、诉求或请求)。DNA 库的建立为大量增加植物种质提供了一个新的选择 (Peacock, 1989; Adams 等, 1994)。作为遗传物质基础的 DNA 能够方便地从植物材料中获取, 经过纯化处理后, 这些包含着生物体

所有遗传信息的 DNA 可以在低温条件下长期而稳定地储存; 同时可以针对不同目的克隆重要的基因, 建立 DNA 或 cDNA 文库保存备用。因此, DNA 库被称为“时代文物密藏容器”, 换句话说, 它是一类被冻结了的基因资源, 是潜在的最稳定的种质保存方式 (Krishnamurthy, 2003)。

1.2 遗传信息获取系统

遗传信息既是 iFlora 区别于传统植物志的新内容, 也是 iFlora 用于物种快速鉴定和检索的主要途径, 它的获取和应用技术是实现智能化的关键核心之一。近 20 年来, 遗传信息被广泛应用于植物科学的许多领域 (Qiu 等, 2006; Smith 和 Donoghue, 2008; Willis 等, 2009; Tang 等, 2010)。早在上世纪 80 年代, 遗传信息就开始被

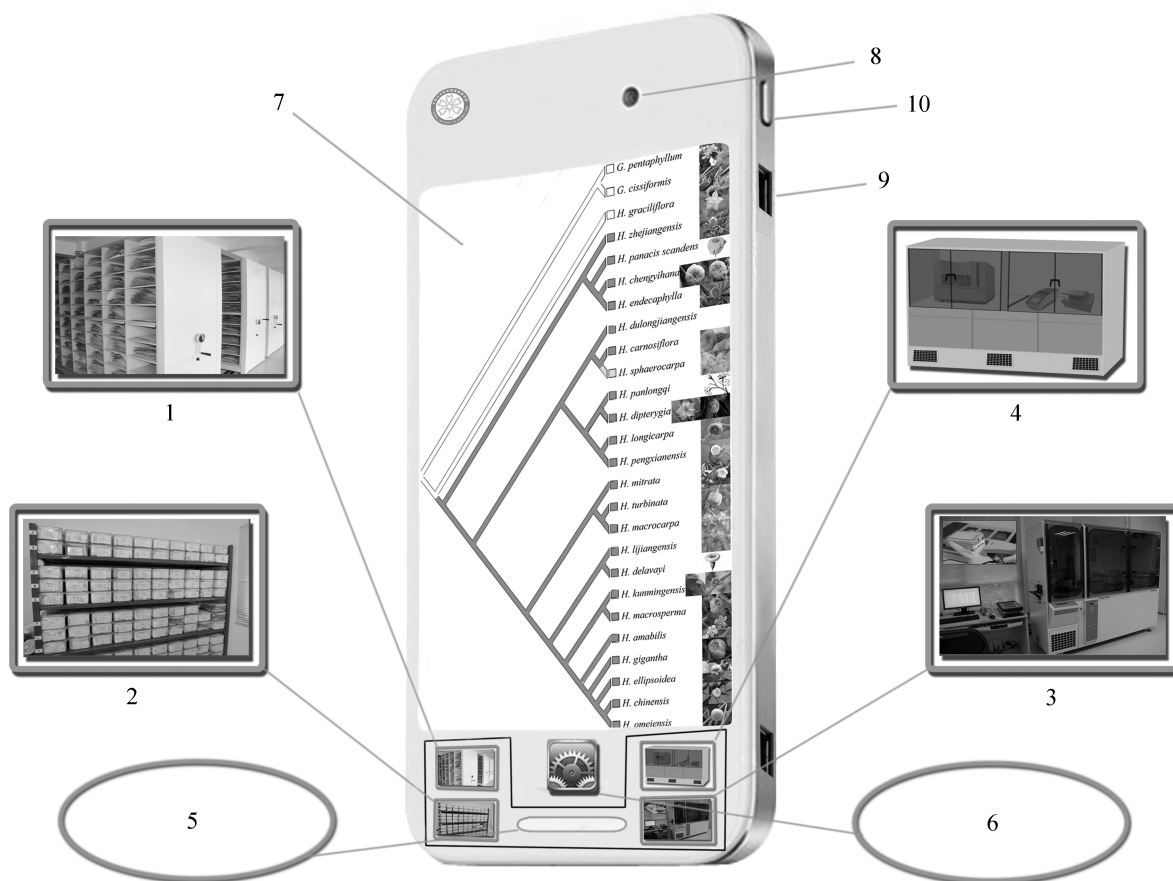


图 1 iFlora 智能装置概念图

1. 标本库; 2. 分子材料库; 3. 总 DNA 库; 4. 遗传信息高效获取系统; 5. 物种数字化信息库; 6. 数据信息分析对比及计算机云服务系统; 7. 物种信息展示屏; 8. 图片信息采集系统; 9. 数据信息输入/输出; 10. 功能键

Fig. 1 A conceptual framework for iFlora device

1. herbarium (voucher specimens storage); 2. molecular materials bank; 3. total DNA bank; 4. genetic information acquisition system; 5. species digital library; 6. data analysis, comparison and computer cloud service system; 7. species information display screen; 8. picture information acquisition system; 9. data information input/output; 10. functional key

用于物种鉴定和生物多样性的研究 (Higuchi 等, 1984); 到了上世纪 90 年代, 遗传信息在生物学各领域研究中的重要性已无可替代。2003 年 Hebert 等正式提出 DNA 条形码用于生物快速鉴定, 两个方面的工作得到了各国研究者极大关注, 成为目前生物学研究的热点。一是哪些遗传信息可用于物种的快速鉴定 (Hebert 等, 2003; Chase 等, 2007; Kress 和 Erickson, 2007; Hollingsworth 等, 2009; 2011)。目前, DNA 条形码核心条码已基本确定 (Li 等, 2011a), 基于核心条码结合地理分布等信息的生物鉴定技术具有巨大应用价值 (Arnot 等, 1993; Floyd 等, 2002; Herbert 等, 2004; Li 等, 2011a)。但作为以物种为研究对象的植物志, 特别是对于一些物种数目较多的属, 属内鉴别能力更强的 DNA 片段和分子标记的加入可能难以避免 (Taberlet 等, 2007; Seberg 和 Petersen, 2009; Ran 等, 2010; Yang 等, 2012)。二是如何整合利用现有和即将出现的技术手段提高获取遗传信息的能力 (Borisenko 等, 2009; Puillandre 等, 2012)。目前, 依靠普通分子生物学实验设备和优化的实验技术体系, 已能较快速获取所需遗传信息 (Borisenko 等, 2009)。同时, 新一代测序仪的出现也为快速获取遗传信息提供了可能 (Knapp 和 Hofreier, 2010; Glenn, 2011)。一个智能化便携式手持遗传信息获取设备是研究的终极目标 (Janzen 等, 2005), 但受测序等技术的限制, 目前研制一套整合的可复制的车载装置是可期完成的目标。它能提供较为方便和快捷的遗传信息获取技术设备体系, 该体系包括整合遗传信息提取设备于一个较小的实验装置和一套快速获取遗传信息的实验技术体系 (主要是快速批量化的 DNA 提取技术、多重、超快速的目标片段扩增技术和 DNA 测序技术) (图 1: 4)。

1.3 数字化信息库

物种相关信息的数字化转化和储存管理是 iFlora 应用的前提。数据信息的种类和质量、多少数据信息能数字化和数字化程度等直接决定了 iFlora 应用质量。就目前研究积累, 物种信息应包括植物形态性状、习性、地理分布 (最好是 GPS)、染色体、次生代谢物、用途、照片和遗传信息等。这些数据中多数信息如果数字化得

当, 在特定条件下均可作为物种的鉴定信息。如一张高分辨率照片, 若完整植株特别是有物种重要鉴别特征花、果时, 可通过图片比对进行鉴定; 若植物幼苗或植物残片等完全失去植物原有形态性状时, 就可利用植物遗传信息, 结合植物习性、地理分布等一些辅助信息, 完成物种鉴定。一旦物种被准确鉴定, 与之相关的各类信息就唾手可得, 非常方便地实现在任何时间、任何地点快速认识物种并获得它的相关信息。因而, 物种数字化信息库应是一个开放、不断更新和完善的系统, 经认证的新信息均可不断加入, 以丰富对生物多样性的认知, 促进人类进入生物文化圈时代。

1.4 计算分析系统

构成 iFlora 的各单元具有高度整合和集成的特点, 以及海量数字化信息不断更新和完善, 使得只有通过计算机数字化和开放的云计算处理服务平台才有可能实现, 因而数据信息的计算分析系统在整个 iFlora 装置中起到枢纽性作用。开放的数字化信息库可为专业及非专业人员提供有用的数字化信息; 通过计算机分析系统, 可以在世界上的任何地方随时更新和完善数字化信息库, 对新采集或所需要的信息进行分析处理, 得到即时的分析结果。

1.5 标准化的工作流程

严密的标准化工作流程是 iFlora 成功创建的必要保证。从野外标本、实验材料采集、数据信息记录到数据信息上传, 每一步都应严格按照规范化的标准进行操作。标准化的工作流程最重要的特点是整个过程具有可控性和可追溯性。在这个框架下工作的每一步骤都有明确的规定和要求, 形成精密的环环相扣的无缝连接。

2 主要困难和可能的解决办法

2.1 物种采集和鉴定的困难

iFlora 的创建首先需要提取物种各类信息建立相应的标准数据库, 因而, 物种的采集和准确鉴定是整个工作的前提。人类活动特别是经济快速发展极大地影响了生物多样性的存在, 许多物种越来越难以采集, 而采集样品的准确鉴定又极大地依赖分类学家的经验。然而近年来学科发展不平衡, 特别是分子生物学技术在植物分类和系

统学领域的渗透和影响 (Chase 等, 1993; APG, 1998, 2003, 2009), 从事传统分类的研究者越来越少, 并有进一步减少的趋势 (Li 等, 2011b), 因而, 培养新一代的分类学家迫在眉睫。同时, 如何利用几代分类学家积累的馆藏标本获取物种信息特别是遗传信息, 建立数据库和进行相关研究已得到许多研究者的高度重视 (Ristaino, 1998; Staats 等, 2011)。在新技术和适当缩短目的片段扩增长度的情况下, 从标本和一些 DNA 降解严重材料中获取遗传信息成为可能 (Savolainen 等, 1995; Telle 和 Thines, 2008; Andreasen 等, 2009; Knapp 和 Hofreiter, 2010)。

2.2 统一规范化的标准工作流程的执行

iFlora 的创建是一个复杂的系统工程, 需要多学科多团队协作完成, 因而统一规范化的标准工作流程的制定和严格执行是其能够完成的必要保证。iFlora 的研究对象是数以万计的植物物种, 需要提取的物种信息既有传统分类学的形态、地理分布等数据, 也包括物种遗传信息, 这使得信息的多样化大大提高, 获取和整合这些信息需要不同的优势团队协同完成; 同时, 需实时整合时代发展的新技术、新观点攻克 iFlora 创建中的关键技术; 实时更新数据和信息。因而, iFlora 创建是一项巨大工程, 工作流程长, 集物种实物、信息收集、新数据产生、关键技术集成攻关、数据信息整合转换、信息录入/输出等的一套复杂体系。因而必须有规范化的标准工作流程和统一的工作框架, 并严格执行。

2.3 多途径的分析比对工具

过去的物种鉴定主要依赖于受过专业训练的有经验的分类学专家在物种标本和分类学专著的帮助下进行, 对物种的认识也就成为分类专家的专利, 但遇到一些特殊情况 and 目的 (如加工过的植物制品、生物残片等), 这类鉴定就变得很难实施。因而, 开发用于包括普通公众在内的不同用户应用的多途径分析比对工具是 iFlora 创建过程中的重点和难点之一。主要的分析比对工具有两类: 基于照片和图形相似的比对工具和基于数字化遗传信息的比对工具。图形相似性识别技术已广泛应用于信息化领域很多方面。美国科学家哈里斯等编著的《图解植物学词典》(Plant identification terminology: An illustrated glossary),

将植物学分类术语图形化, 利用照片、图片识别技术, 若再结合物种相关信息 (如: 分布区、生活习性等), 引导用户主动判断。从而让基于感官的物种分类, 在设备的辅助下, 变得更加形象和具体, 方便实现物种鉴定。基于数字化遗传信息的物种鉴定是目前研究的热点之一, 最具代表性的就是近年来兴起和不断发展的 DNA 条形码物种鉴定。ITS、*rbcL* 和 *matK* 是目前通用的植物鉴定条码, 这些条码信息经数字化后能比较方便地应用于植物鉴定。

2.4 植物志展示系统的集成

iFlora 是在一个全新的理念指导下, 研制过程从一开始就是一个多学科、多团队合作模式, 在各单元完成后还需要进行无缝集成整合, 这一过程更加需要参与团队的密切配合。因而, 建立目标一致, 思想、步调统一有战斗力的研究团队是 iFlora 最终成功的必要保证。

3 结语

简便快捷地认识物种并获取相关数据信息, 是 iFlora 研制的主要目的。可以预见, 不久的将来, 一个普通公众不经意与一株植物相遇, 恰好这棵植物正好开花或果实累累, 他从衣袋里拿出随身携带的 iFlora 智能装置 (图 1), 对着植株拍照, 照片作为输入信息在 iFlora 智能装置里进行比对, 找到与之一致或者相似图片, 与相应数据一起输出在屏幕上, 经人机互动完成鉴定。同时, 与物种关联的所有信息, 如: 该物种的名称、果实可不可食等均能方便读取。又如面对粉碎成末的树皮, 或是木制家具, 想知道是否是重点保护植物, 可取一点点碎末, 放到随身携带的 iFlora 智能装置进样口, 在仔细查看样品与相关人员了解情况期间, iFlora 智能装置就能提取碎末里的遗传信息, 并与本身数据库比对分析, 鉴定物种。因而, iFlora 智能装置不仅将在植物学及相关学科发展、生物多样性保护和资源可持续利用等领域大显身手, 在食品安全、产业部门和公共教育和服务等方面也将具有重要的应用价值。

〔参 考 文 献〕

Adams LW, 1994. *Urban Wildlife Habits* [M]. Minneapolis MN:

- Minnesota University Press
- Andreasen K, Manktelow M, Razafimandimbison SG, 2009. Successful DNA amplification of a more than 200-year-old herbarium specimen: recovering genetic material from the Linnaean era [J]. *Taxon*, **58**: 959—962
- APG, 1998. An ordinal classification for the families of flowering plants [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **85** (4): 531—553
- APG, 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **141** (4): 399—436
- APG, 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **161** (2): 105—121
- Arnot DE, Roper C, Bayoumi RAL, 1993. Digital codes from hyper-variable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates [J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, **61**: 15—24
- Blaxter M, 2003. Molecular systematics: counting angels with DNA [J]. *Nature*, **421**: 122—124
- Borisenko AV, Songs JE, Hebert PDN, 2009. The front-end logistics of DNA barcoding: challenges and prospects [J]. *Molecular Ecology Resources*, **9**: 27—34
- Brach AR, Boufford DE, 2011. Why are we still producing paper floras? [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **98**: 297—300
- Brach AR, Song H, 2005. ActKey: A web-based interactive identification key program [J]. *Taxon*, **54**: 1041—1046
- Brooke ML, 2000. Why museums matter [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, **15**: 136—137
- Brown B, Emberson RM, Paterson AM, 1999. Mitochondrial COI and II provide useful markers for *Weiseana* (Lepidoptera, Hepialidae) species identification [J]. *Bulletin of Entomological Research*, **89**: 287—294
- Chase MW, Soltis DE, Olmstead RG *et al.*, 1993. Phylogenetics of seed plants: An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL* [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **80**: 528—580
- Chase MW, Cowan RS, Hollingsworth PM *et al.*, 2007. A proposal for a standardized protocol to barcode all land plants [J]. *Taxon*, **56**: 295—299
- Diane LL, Mim A, Bower, Martin KJ, 2010. Herbarium specimens expand the geographical and temporal range of germplasm data in phylogeographic studies [J]. *Taxon*, **59**: 1321—1323
- Floyd R, Abebe E, Papert A *et al.*, 2002. Molecular barcodes for soil nematode identification [J]. *Molecular Ecology*, **11**: 839—850
- Frodin DG, 2001. *Guide to Standard Floras of the World*, ed. 2 [M]. UK, Cambridge: Cambridge University Press
- Funk VA, 2006. Floras: A model for biodiversity studies or a thing of the past? [J]. *Taxon*, **55**: 581—588
- Glenn TC, 2011. Field guide to next-generation DNA sequencers [J]. *Molecular Ecology Resources*, **11**: 759—769
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL *et al.*, 2003. Biological identification through DNA barcodes [J]. *Proceedings of the Royal Society of London*, series B, **270**: 313—321
- Hebert PDN, Penton EH, Burns JM *et al.*, 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**: 14812—14817
- Higuchi R, Bowman B, Freiburger M *et al.*, 1984. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family [J]. *Nature*, **312**: 282—284
- Hollingsworth PM, Clark A, Forrest LL *et al.*, 2009. Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven candidate loci with species-level sampling in three divergent groups of land plants [J]. *Molecular Ecology Resources*, **9**: 439—457
- Hollingsworth PM, Graham SW, Little DP, 2011. Choosing and using a plant DNA Barcode [J]. *PLoS One*, **6**: e19254
- Janzen DH, Hajibabaei M, Burns JM *et al.*, 2005. Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, **360**: 1835—1845
- Knapp M, Hofreiter M, 2010. Next generation sequencing of ancient DNA: requirements, strategies and perspectives [J]. *Genes*, **1**: 227—243
- Kress WJ, Erickson DL, 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complement the non-coding *trnH-psbA* apacer region [J]. *PLoS One*, **2**: e508
- Krishnamurthy KV, 2003. *Textbook of Biodiversity* [M]. New Hampshire: Science Publishers Inc
- Li DZ, Gao LM, Li HT *et al.*, 2011a. Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**: 19641—19646
- Li DZ, Liu JQ, Chen ZD *et al.*, 2011b. Plant DNA barcoding in China [J]. *Journal of Systematical and Evolution*, **49**: 165—168
- Li DZ (李德铎), Wang YH (王雨华), Yi TS (伊廷双) *et al.*, 2012. The next-generation Flora: iFlora [J]. *Plant Diversity and Resources*, **34** (6): 525—531
- Martijn S, Argelia C, James ER *et al.*, 2011. DNA damage in plant herbarium tissue [J]. *PLoS One*, **6**: e28448
- Niesters HG, Goessens WH, Meis JF *et al.*, 1993. Rapid, polymerase chain reaction-based identification assays for *Candida* species [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, **31**: 904—910
- Peacock WJ, 1989. Molecular biology and genetic resources [A]. In: Brown AHD, Frankel OH, Marshall DR *et al.* *The Use of*

- Plant Genetic Resources* [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 363—373
- Puillandre N, Bouchet P, Boisselier-Dubayle MC *et al.*, 2012. New taxonomy and old collections: integrating DNA barcoding into the collection curation process [J]. *Molecular Ecology Resources*, **12**: 396—402
- Qiu YL, Li L, Wang B *et al.*, 2006. The deepest divergences in land plants inferred from phylogenomic evidence [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**: 15511—15516
- Ran JH, Wang PP, Zhao HJ *et al.*, 2010. A test of seven candidate barcode regions from the plastome in *Picea* (Pinaceae) [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, **52**: 1109—1126
- Ristaino JB, 1998. The importance of archival and herbarium materials in understanding the role of Oospores in late blight epidemics of the past [J]. *Phytopathology*, 1120—1130
- Salvatore C, Donata C, Giuseppe P *et al.*, 2007. Genetic variation in time and space: the use of herbarium specimens to reconstruct patterns of genetic variation in the endangered orchid *Anacamptis palustris* [J]. *Conservation Genetics*, **8**: 629—639
- Savolainen V, Cuenoud P, Spichiger R *et al.*, 1995. The use of the herbarium specimens in DNA phylogenetics: Evaluation and improvement [J]. *Plant Systematics and Evolution*, **197**: 87—98
- Savolainen V, Reeves G, 2004. A plea for DNA banking [J]. *Science*, **304**: 1445
- Seberg O, Petersen G, 2009. How many loci does it take to DNA barcode a crocus? [J]. *PLoS One*, **4**: e4598
- Smith SA, Donoghue MJ, 2008. Rates of molecular evolution are linked to life history in flowering plants [J]. *Science*, **322**: 86—89
- Staats M, Cuenca A, Richardson JE *et al.*, 2011. DNA damage in plant herbarium tissue [J]. *PLoS One*, **6**: e28488
- Stoeckle M, 2003. Taxonomy, DNA, and the barcode of life [J]. *Bioscience*, **53**: 796—797
- Taberlet P, Coissac E, Pompanon F *et al.*, 2007. Power and limitations of the chloroplast *trnL* (UAA) intron for plant DNA barcoding [J]. *Nucleic Acids Research*, **35**: e14
- Tang H, Bowers JE, Wang X *et al.*, 2010. Angiosperm genome comparisons reveal early polyploidy in the monocot lineage [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**: 472—477
- Tautz D, Arctander P, Minelli A *et al.*, 2002. A plea for DNA taxonomy [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, **18** (2): 70—74
- Telle S, Thines M, 2008. Amplification of *cox2* (−620 bp) from 2 mg of up to 129 years old herbarium specimens, comparing 19 extraction methods and 15 polymerases [J]. *PLoS One*, **3**: e3584
- Vincent S, Philippe S, Rodolphe S *et al.*, 1995. The use of herbarium specimens in DNA phylogenetics: evaluation and improvement [J]. *Plant Systematics and Evolution*, **197**: 87—98
- Wells JD, Pape T, Sperling FAH, 2001. DNA-based identification and molecular systematics of forensically important sarcophagidae (Diptera) [J]. *Journal of Forensic Sciences*, **46**: 1098—1102
- Willis CG, Ruhfei B, Primack BA *et al.*, 2009. Phylogenetic patterns of species loss in Thoreau's woods are driven by climate change [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**: 17029—17033
- Yang JB, Wang YP, Michael M *et al.*, 2012. Applying plant DNA barcodes to identify species of *Parnassia* (Parnassiaceae) [J]. *Molecular Ecology Resources*, **12**: 267—275